

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1933-1934. — N° 234

COLIBACILLE ET MILIEU INTESTINAL

CHEZ LES POISSONS D'EAU DOUCE

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention « PHARMACIE »

présentée et soutenue publiquement le Lundi 30 Octobre 1933

PAR

Charles MONTIN

PHARMACIEN

Né à LIBOURNE (Gironde), le 2 juillet 1907.

Examineurs de la Thèse

{	MM. MANDOUL, professeur.....	Président.
	DUPOUY, professeur.....	Juges.
	R. SIGALAS, agrégé.....	
	VITTE, agrégé ,.....	

BORDEAUX

IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DE L'UNIVERSITÉ

Y. CADORET, DELMAS, SUCCESSEUR

6, Place Saint-Christoly

1933

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1933-1934. — N° 234

COLIBACILLE ET MILIEU INTESTINAL CHEZ LES POISSONS D'EAU DOUCE

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention « PHARMACIE »

présentée et soutenue publiquement le Lundi 30 Octobre 1933

PAR

Charles MONTIN

PHARMACIEN

Né à LIBOURNE (Gironde), le 2 juillet 1907.

Examineurs de la Thèse	{	MM. MANDOUL, professeur.....	Président.
		DUPOUY, professeur.....	Juges.
		R. SIGALAS, agrégé.....	
		VITTE, agrégé	

BORDEAUX
IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DE L'UNIVERSITÉ
Y. CADORET, DELMAS, SUCCESEUR
6, Place Saint-Christoly

1933

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

M. SIGALAS..... Doyen.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. POUSSON, MOURE, W. DUBREUILH, RIVIÈRE, BARTHE,
DENIGÈS, AUCHÉ, SELLIER, BEILLE, CASSAËT

PROFESSEURS

	MM.		MM.
Clinique médicale.....	MAURIAC.	Zoologie et parasitologie.....	MANDOUL.
id.....	DUPÉRIÉ.	Médecine expérimentale.....	N.
Clinique chirurgicale.....	CHAVANNAZ.	Clinique ophtalmologique.....	TEULIÈRES.
id.....	BÉGOUIN.	Clinique chirurg. infantile et orthopédie..	ROCHER.
Pathologie et thérapeutiques générales.....	CARLES.	Clinique gynécologique.....	GUYOT.
Clinique d'accouchements.....	ANDÉRODIAS.	Clinique méd. des maladies des enfants..	CRUCHET.
Anatomie pathol. et microscopie clinique.....	SABRAZÈS.	Chimie biologique et médicale.....	DELAUNAY.
Anatomie.....	VILLEMIN.	Physique médicale et pharmaceutique....	SIGALAS.
Anatomie générale et histologie.....	G. DUBREUIL.	Médec. coloniale et clin. des mal. exotiques.	BONNIN.
Physiologie.....	PACHON.	Clinique des malad. cutanées et syphilitiques	PETGES.
Hygiène.....	LEURET.	Clinique des maladies des voies urinaires.	DUVERGEY
Médecine légale et déontologie.....	LANDE.	Clinique des malad. nerveuses et mentales.	ABADIE.
Electroradiologie et clin. d'électricité médic.	RÉCHOU.	Clinique d'oto-rhino-laryngologie.....	PORTMANN.
Chimie.....	CHELLE.	Toxicologie et hygiène appliquée.....	LABAT.
Botanique et matière médicale.....	N.	Hydrologie thérapeutique et climatologie..	CREYX.
Pharmacie.....	DUPOUY.	Clinique dentaire.....	CAVALIÉ.

MM. MICHELEAU (Médecine générale). MURATET (Anatomie pathologique). GOLSE (Pharmacie).
LACOSTE (Histologie). PERY (Obstétrique). PERRENS (Maladies mentales).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Anatomie.....	DUBECQ.	Chirurgie générale.....	JEANNENEY.
id.....	DUFOUR.	id.....	CHARRIER.
Physiologie.....	FABRE.	id.....	LOUBAT.
Parasitologie et sciences naturelles.....	R. SIGALAS.	Obstétrique.....	RIVIÈRE.
Médecine générale.....	N.	Ophtalmologie.....	BEAUVIEUX.
id.....	N.	Physique médicale.....	N.
id.....	AUBERTIN.	Dermatologie et syphiligraphie.....	JOULIA.
id.....	DAMADE.	Oto-rhino-laryngologie.....	N.
id.....	PIÉCHAUD.	Chimie générale pharmaceut. et toxicologie.	VITTE.
id.....	DELMAS-MARSALET.	Histoire naturelle pharmaceutique.....	N.
Chirurgie générale.....	PAPIN.		

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.		MM.
Médecine opératoire.....	PAPIN.	Puériculture.....	FAUGÈRE.
Physiologie.....	FABRE.	Démonstrations et préparations pharmac..	GOLSE.
Pathologie médicale.....	DELMAS-MARSALET.	Zoologie et parasitologie.....	R. SIGALAS.
Accouchements.....	RIVIÈRE.		
Ophtalmologie.....			MM. CABANNES (en congé).
Orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes.			N.
Cours complémentaire annexe. — Prothèse et rééducation professionnelle.....			GOURDON.
id.....	Clinique dentaire.....		DELGUEL.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.



A LA MEMOIRE DE MA MERE

A MA FEMME

A MES PARENTS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR DUPOUY

*Professeur de Pharmacie à la Faculté de Médecine
et de Pharmacie de Bordeaux,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Officier de l'Instruction publique.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GOLSE

*Professeur de Botanique et Matière médicale
à la Faculté de Médecine de Bordeaux,
Pharmacien des Hôpitaux,
Officier de l'Instruction publique.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR GIRARD

*Assistant au Laboratoire de zoologie et parasitologie
à la Faculté de Médecine de Bordeaux.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR RAYMOND SIGALAS

*Chargé du Cours complémentaire de Zoologie et de Parasitologie,
Chef des travaux de Zoologie et de Parasitologie,
Directeur du Laboratoire maritime de l'Ecole des Hautes Etudes de Paris,
Directeur de la Station biologique d'Arcachon,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Croix de guerre.*

A MON PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR H. MANDOUL

*Professeur de Zoologie et de Parasitologie
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux,
Docteur ès sciences,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Commandeur du Nicham-Iftikhar,
Officier de l'Instruction publique.*

COLIBACILLE ET MILIEU INTESTINAL

CHEZ LES POISSONS D'EAU DOUCE

INTRODUCTION

Afin de contrôler les données classiques d'après lesquelles le colibacille serait l'hôte constant du tube digestif de tous les animaux (1, 2, 3), M. le Professeur Mandoul, qui s'est intéressé depuis longtemps à la signification de la présence de cette bactérie dans les eaux, a fait faire dans son laboratoire un certain nombre de travaux.

C'est ainsi que Fleury a conclu à l'absence de colibacille dans le tube digestif des poissons de mer et chez un cétacé sur lequel il avait fait les mêmes recherches. Mais ce mammifère, comme les poissons étudiés, vit constamment en milieu marin, et l'on peut se demander si les résultats sont dus au milieu ou s'ils se confirment chez les hôtes de l'eau douce. C'est la vérification de cette hypothèse que M. le Professeur Mandoul me fit l'honneur de me confier.

Les résultats de ce premier travail sur les poissons dans leur milieu naturel m'ont conduit à essayer de placer ces données dans les conditions expérimentales et de préciser, dans une certaine mesure, les causes de cette particularité

biologique. Les expériences ont été faites au Laboratoire de zoologie et de parasitologie, où mon maître, M. le Professeur Mandoul, m'a guidé dans mes efforts et aidé de ses judicieux conseils avec une aimable bienveillance dont je ne saurai assez lui témoigner ma vive gratitude.

Il orienta, en particulier, mes recherches sur l'action bactéricide possible du milieu intestinal des poissons, et cette étude, qui devait nous donner des résultats satisfaisants, constitue un chapitre spécial de ce travail, dont le plan se trouve ainsi tout tracé.

1° La première partie : *Recherches du colibacille chez les poissons d'eau douce, morts ou vivants, dans leur milieu naturel*, comporte l'examen de l'intestin et du péritoine des poissons, morts ou vivants, dans leurs divers milieux : torrents, rivières, étangs, estuaires. Les résultats de ces expériences m'ont entraîné à étudier les appâts, agents de pollution massive du milieu intestinal.

2° La seconde partie : *Recherches du colibacille chez les poissons d'eau douce dans des conditions expérimentales*, a trait à la vitalité de la bactérie ingérée en repas d'épreuve dans l'intestin du poisson vivant dans un milieu connu.

3° La troisième partie : *Recherches sur l'action du milieu intestinal sur le colibacille*, est l'étude de l'action de l'extrait d'intestin sur la bactérie. Cette étude permet de définir les quantités nécessaires pour la détruire, en tenant compte des variations ioniques du milieu et de la situer, d'après sa résistance, parmi quelques bacilles.

PREMIÈRE PARTIE

Recherches du colibacille chez les poissons d'eau douce dans leur milieu naturel.

I

TECHNIQUE

Ce premier chapitre porte sur la numération du colibacille dans l'eau douce et sa recherche dans l'intestin et le péritoine des poissons, tant pour vérifier l'assertion des auteurs que pour chercher les relations entre la pollution du milieu et la contamination de l'hôte.

Pour la numération des germes de l'eau, nous nous en sommes tenu aux méthodes classiques de Vincent, de Diénert et Etrillard [6], qui nous ont donné des différences sans importance sur l'ordre de grandeur qu'il importait de définir.

L'étude de l'intestin et du péritoine du poisson porte sur des individus pris dans des conditions d'espèces et milieux aussi variés que possible, pour en tirer des conclusions plus générales et mieux fondées : *toutes les expériences ont été faites en présence d'une culture pure de colibacille fournie par l'Institut Pasteur de Bordeaux, repiquée simultanément sur les différents milieux utilisés, servant ainsi de terme de comparaison en vue de réaliser les conditions maxima de*

sûreté dans le contrôle des cultures et l'examen des frottis. J'ai pris comme *second témoin un coli découvert dans l'intestin d'un poisson* pour éviter les erreurs d'interprétation qu'aurait pu entraîner une variété adaptative différente (Giard, Renoult, Gilbert, etc.), bien que la fixité des caractères de ces variétés ne soit que temporaire. Je me suis attaché ensuite à opérer avec un matériel rigoureusement stérile d'une façon strictement aseptique : le poisson, fiché sur l'arête dorsale, étant ouvert et la masse intestinale séparée avec précaution, on applique sur le milieu de la branche ascendante du gros intestin une aiguille lancéolée rougie, puis on perce en ce point, et, pour éviter de prélever un liquide probablement stérilisé en opérant cependant de façon aseptique, la pipette de prélèvement est introduite fermée par l'orifice ainsi pratiqué, avancée en remontant le viscère, puis brisée à l'intérieur même à l'aide de pinces.

Une seconde prise est faite dans les mêmes conditions dans l'intestin grêle — car il nous a paru très difficile de vider en une fois le contenu de l'intestin — une troisième en profondeur dans le méat anal, enfin, une dernière dans le péritoine viscéral.

Le contenu intestinal ou le liquide péritonéal recueilli est ensemencé en même temps que les témoins sur gélose lactosée tournesolée, coulée en boîte de Pétri, selon la méthode donnée par Dumont pour l'isolement du colibacille. La matière à analyser est ajoutée à la gélose refroidie mais encore liquide, et, après vingt-quatre heures ou quarante-huit heures au maximum, les colonies de colibacille apparaissent en tache rouge, confluant généralement avec les autres colonies. Un prélèvement dans ces taches est ensemencé à nouveau sur le même milieu, solide cette fois, étalé avec un agitateur recourbé stérile et repiqué ainsi de façon de plus en plus légère jusqu'à ce que l'examen microscopique direct et la méthode de Gram montrent des colonies pures.

Pour confirmer les résultats de l'examen direct (motilité, forme) et du Gram (négatif), nous nous sommes arrêté aux

caractères fondamentaux généralement admis d'après lesquels le bacille coli :

1° Ne liquéfie pas la gélatine;

2° Coagule le lait avec production d'acide lactique qui fait virer le lait tournesolé;

3° Fait fermenter la lactose et le glucose avec dégagement gazeux — les gaz obtenus sont recueillis dans un tube à hémolyse renversé sur le bouillon et servant de cloche — dans le cas de la lactose, la fermentation est accompagnée de production d'acide faisant virer les milieux tournesolés;

4° Produit de l'indol à partir des milieux peptonés, ce dernier caractère ne pouvant infirmer les résultats positifs des autres; on admet, en effet, que les variétés colibacillaires non indologènes sont assez fréquentes dans l'eau.

En définitive, je me suis attaché à opérer de façon bactériologique, et, à côté de l'asepsie, j'ai cherché les moyens les plus sûrs de conservation et de prolifération des germes bactériens. Les antiseptiques, tel le phénol, ont été rejetés d'une façon absolue. Tous les ensemencements ou repiquages ont été faits parallèlement avec des témoins en vue de vérifier les conditions favorables de transfert et culture. Il m'est ainsi arrivé plusieurs fois de rejeter une série de prises parce que la culture témoin était mal conservée en arrivant au laboratoire.

II

RECHERCHES SUR LES POISSONS MORTS

Muller [8] cite, dans *Munch. Mediz. Wochenschrift* (3 mars 1914), un cas d'empoisonnement par des bactéries du groupe paratyphique survenu à la suite de l'absorption d'anguilles fraîches provenant du marché, et semble attribuer la contamination du poisson à l'absorption de viandes putréfiées. Fleury ne cite qu'un cas où l'ensemencement du contenu intestinal d'un poisson marin pris au marché ait donné une culture de colibacille : sans opinion préconçue, nous avons pris des sujets variés de taille et d'âge dans les espèces les plus différentes par l'habitat et la nourriture, rejetant seulement les individus paraissant mal conservés ou présentant à l'ouverture du ventre un tube digestif perforé.

La première étude porte sur :

- 2 Aloses (*Alausa vulgaris* Cuv.-Val);
- 2 Truites (*Salmo Fario* L.);
- 2 Carpes (*Carpus Carpio* L.);
- 2 Anguilles (*Auguilla Anguillum* Cuv.);
- 2 Tanches (*Tinca vulgaris* Cuv.),

que nous distinguons dans la même espèce par des chiffres romains, en commençant par les plus jeunes :

— la plupart des intestins sont peu remplis; les matières, plutôt claires chez les truites et les aloses, sont noirâtres et fétides chez les autres poissons;

— l'ensemencement du contenu intestinal d'une anguille n'a pas donné de culture;

— tous les autres ont cultivé.

Ces cultures, fortement polluées, ont exigé de nombreux repiquages sur bouillon, gélose lactosée tournesolée, avant de donner des colonies assez séparées permettant un prélèvement facile de variétés bacillaires bien isolées.

Or, l'examen microscopique révèle seulement dans les taches rouges ou rosées sur gélose lactosée tournesolée des milieux :

Anguille II et Carpe I, des bâtonnets mobiles à Gram négatif ou douteux.

A aucun moment de leur culture les autres milieux n'ont présenté ces caractères au microscope. Leur étude plus approfondie nous a permis de reconnaître fréquemment du *Proteus*, et deux fois du *Subtilis*.

L'incorporation en gélose lactosée tournesolée d'une tache rosée légèrement butyreuse de la culture Anguille II donne, après quarante-huit heures, quelques ponctuations rose-jaune, tandis qu'une tache du milieu Carpe I donne, dans le même temps, un virage homogène du milieu. L'examen microscopique montre dans l'anguille des bâtonnets allongés plus ou moins décolorés par le Gram; au contraire, les préparations Carpe I sont remplies de bâtonnets courts, trapus, à Gram nettement négatif; les cultures parallèles en milieu spécifique ont donné les résultats suivants.

	GÉLATINE	LAIT TOURNESOLÉ	BOUILLON LACTOSÉ	BOUILLON GLUCOSÉ	EAU PEPT.	RÉACTION
Carpe I. . .	Liquéfaction nulle	Coagulation et virage.	Dégagement gazeux.	Dégagement gazeux.	Odeur forte.	R. de l'indol. +
Anguille II.	Liquéfaction légère.	Coagulation et décoloration.	Dégagement faible.	Dégagement faible.	Odeur nulle.	Indol. —

Seul, le contenu intestinal de la Carpe I a donné des cultures présentant nettement tous les caractères du colibacille, la culture du coli témoin, qui avait subi les mêmes repiquages, était aussi virulente et les témoins non ensemencés n'avaient pas poussé : donc le colibacille s'est conservé où il était initialement et la pollution externe ne l'a pas apporté dans les cultures. On peut donc conclure :

Seul, l'intestin de la Carpe I renfermait du coli.

En dix séries d'expériences consécutives, quatre lots de douze poissons appartenant aux espèces précédentes et

- 6 Ablettes (*Leuciscus vulgaris* Guth);
- 6 Barbeaux (*Barbus fluviatilis* Cuvier);
- 6 Chevennes (*Leuciscus cephalus* L);
- 6 Brochets (*Esox lucius* L);
- 6 Goujons (*Gobio fluviatilis* Bell);
- 6 Gardons (*Leuciscus rutilus*),

ont été étudiés successivement en ajoutant aux cultures témoins celle du coli découvert dans la Carpe I. Ces quatre-vingts cultures ont été observées aussi soigneusement que les précédentes sans qu'il soit possible d'identifier le colibacille ailleurs que dans le contenu intestinal d'un barbillon et d'un jeune brochet.

Dans les autres ensemencements, nous avons pu identifier du *Proteus* (3 chevennes, 2 ablettes et 2 goujons étaient porteurs de *Proteus*), du streptocoque dans une culture de chevenne.

Le nombre d'expériences paraît suffisant pour qu'on puisse affirmer que le *coli* ne se trouve qu'à l'état d'exception dans l'intestin des poissons d'eau douce morts.

Les prises d'essai dans le liquide péritonéal de ces mêmes poissons ont toujours été négatives au point de vue colibacille.

III

RECHERCHES SUR LES POISSONS VIVANTS

Dans les différents milieux où je les ai étudiés, les poissons examinés ont été pris *vivants* et le prélèvement des liquides intestinal et péritonéal était fait *avant que le sujet ne meure*, ce qui justifie le titre de cette partie de notre étude.

Les travaux précédents ayant trait à ce sujet sont assez imprécis à l'égard du colibacille.

Cependant Tannezo Kabeshima [9] prétend que l'on peut trouver des germes dans l'intestin d'une daurade qui a séjourné dans une eauensemencée de vibron cholérique et qu'il en est probablement de même d'autres bacilles; d'autre part, il aurait découvert, au cours de ses recherches, du colibacille dans les matières fécales de cyprins dorés. Azzi [5] identifie dans le contenu intestinal du *Scillarium Stellare* (du golfe de Naples) trente et une variétés de germes, parmi lesquels il cite le coli.

Les seules expériences relatives au colibacille chez les poissons d'eau douce que nous ayons trouvées sont publiées dans la *Revue d'hygiène* sous la signature du Docteur Remlinger [11]. Il y est dit que le tube digestif d'anguilles qui vivent dans les eaux destinées à l'alimentation à Tanger et à Mogador renferme à l'état normal du bacille coli.

« On démontre, d'autre part, dit-il, qu'un poisson vivant dans une eau contaminée par du bacille d'Ebert ou du vibron cholérique recèle dans son tube digestif ces microbes pathogènes, qui peuvent véhiculer d'un fleuve contaminé à un

affluent indemne, souillant ainsi le cours d'eau. Ce qui est vrai pour l'Eberth doit l'être aussi bien pour le coli, hôte normal de l'intestin. » M. le Professeur Remlinger, à qui nous avons demandé quelques renseignements exacts au sujet de ce travail a bien voulu nous répondre qu'il lui était « impossible de préciser le nombre d'expériences faites sur le coli » chez les anguilles et qu'« il s'agit d'une simple communication sans importance ».

Mais, à côté de cela, les constatations des Professeurs Lauternhorn et Vorster [12] ont conduit la ville de Strasbourg à l'épuration biologique des eaux d'égout par la culture de végétaux et l'acclimatation de poissons appropriés d'après la méthode du Professeur Hoffer, pratiquée en Allemagne. A Strasbourg, le Professeur Dumbar [12], directeur de l'Institut d'hygiène de Hambourg, constate qu'à la suite du passage dans des bassins d'épuration où sont élevés tanches, carpes, brochets et perches, la teneur de l'eau en bactéries, qui est de 10.000.000 par centimètre cube à l'arrivée, n'est plus que de 10.000 à la sortie.

Il ressort de l'étude bibliographique que nous avons pu faire que le colibacille, considéré comme l'hôte normal de l'intestin des poissons, a été identifié chez quelques poissons marins et dans une seule variété de poissons d'eau douce en eau potable; que le poisson d'eau douce, considéré comme susceptible de souiller l'eau pure en y apportant des germes bactériens, est employé ailleurs pour détruire ces mêmes germes, en particulier le colibacille, dans l'eau polluée.

Il semble que, pour concilier ces résultats, il faille considérer le colibacille comme hôte, non pas normal, mais, à la fois, constant et éphémère de l'intestin du poisson, qui le détruit au fur et à mesure de l'absorption. Dès lors, la contamination des cours d'eau se ferait par les bactéries qu'il porte à la surface du corps, comme le dit ailleurs Remlinger.

Ces opinions tracent le plan de notre travail, car, après la vérification de la présence du coli dans l'intestin, elles posent dans l'affirmative le problème de sa destinée.

Mon intention était, en remontant les cours d'eau, de définir la variation des proportions de sujets porteurs de coli et son rapport avec les espèces et le pourcentage de l'eau en germes. Ces essais ne m'ayant pas donné de résultats, nous avons simplement classé les poissons examinés d'après leur origine.

1° Poissons de torrents : Truites.

I. — Un premier lot de cinq truites nous a été fourni par un pêcheur à quelques kilomètres en amont de Rebenacq, dans la vallée du Neez, à peu de distance de la source, dont les eaux proviendraient de l'infiltration du gave d'Ossau, au niveau d'Arudy. Les eaux, très rapides, sont claires et ne charient guère que des débris végétaux : la méthode de Vincent y révèle 20 germes de coli par litre.

L'ensemencement du contenu intestinal a donné une seule culture, les témoins sont cependant bien conservés. L'étude du milieu poussé montre qu'il s'agit d'un mésentéricus.

II. — Dans la vallée d'Ossau, en aval de Laruns, nous avons pu nous procurer un lot de dix truites pêchées à la ligne au ver dans le courant d'une source se déversant dans un vivier. L'eau, à 7 degrés, ne présente pas de germes. Cependant un ensemencement nous a donné une culture pure de coli. Il provenait d'une truite jeune dont l'intestin était particulièrement bourré.

Deux nouvelles séries d'expériences nous ont permis d'examiner le contenu intestinal de vingt truites : toutes les recherches du colibacille ont été négatives.

2° Poissons de rivière.

I. — Pris à Tonneins :

3 Barbeaux;

3 Chevennes, parmi lesquels 1 alevin;

3 Ablettes, parmi lesquelles 1 alevin;

4 Aloses, parmi lesquelles 1 alevin.

Ces poissons, pêchés à l'appât à la mie de pain, étaient ouverts dès que pris et l'ensemble de l'intestin, tronçonné, ensemencé en eau peptonée, pour être repiqué ensuite sur milieu Dumont.

Les intestins de chevennes, d'ablettes, de trois petites aloses et de deux barbeaux ont donné des cultures, mais, seules, celles des deux alevins (ablette et chevenne) présentent sur gélose des taches roses ou rouges et, seules, elles renferment des bacilles à Gram négatif. Les deux intestins renfermaient une fiente jaunâtre à odeur fétide qui se retrouve dans les milieux.

Le bouillon chevenne est couvert d'un voile en surface et la masse est trouble, le bouillon ablette présente seulement le trouble de la masse. L'ensemencement en stries sur gélose lactosée tournesolée donne, dans le premier cas, des traînées sinueuses à stries transversales allant du centre lisse aux contours, mal définis et frangés d'une bande grise muqueuse qui tend à gagner la masse; la culture d'ablette donne, dans les mêmes conditions, des taches roses hachurées présentant la même frange grise.

J'ai fait dans les parties rouges et roses seules des deux cultures des prélèvements de plus en plus légers, étendus à l'aide d'un agitateur en verre recourbé stérile; mais, si diluées que soient les prises, la culture présentait les mêmes caractères. L'ensemencement en gélose encore liquide de prélèvements infimes de bouillon donne, enfin, des taches rouge vif à contour net et des taches roses à contour gris feutré, mal définis dans le cas chevenne : ces dernières taches, seules, paraissent dans les cultures ablettes.

L'examen microscopique des taches rouges montre des bacilles très courts, trapus, immobiles, sans orientation définie, à Gram négatif. Le Gram, douteux pour les autres, est seulement négatif pour la méthode de Gram-Nicollé : le bacille a la forme cocobacillaire.

Les milieux spécifiques donnent les résultats suivants quarante-huit heures après l'ensemencement.

	GÉLATINE	LAIT TOURNESOLÉ	BOUILLON LACTOSÉ	BOUILLON GLUCOSÉ	INDOL
Cult. roses..	Liquéfaction légère.	Coagulation incomplète, virage.	Dégagement gazeux.	Dégagement gazeux.	Nettement positif.
Cult. rouges.	Liquéfaction nulle.	Coagulation, virage.	»	»	Faiblement positif.

Les deux bacilles sont anaérobies facultatifs.

En vieillissant, la gélose des taches rouges laisse apparaître des stries rayonnantes en arêtes de poisson, et, après repassage en bouillon très nutritif, nous obtenons de fins bacilles filamenteux : il s'agit d'un *Proteus*.

L'identification des acides lactique et formique dans les milieux lactosés, la réduction en milieu anaérobie de bleu de méthylène et de la safranine, qui reprennent leur coloration au contact de l'air, m'ont fait conclure pour le microbe des taches rouges à une variété de coli immobilis qu'a définie Durham [43].

II. — Par lots de dix à douze, j'ai examiné encore 53 poissons pris dans la Garonne dans une zone s'étendant du port de Bègles à celui de Bacalan :

- 8 Gardons;
- 15 Aloses;
- 18 Anguilles;
- 12 Acèges.

Une anguille de 10 centimètres et un gardon de 7 centimètres étaient seuls porteurs de colibacille.

3° Poissons d'étang:

Le lot examiné comprend :

- 20 Tanches;
- 18 Carpes,

prises au filet dans des étangs situés à proximité des habitations, dans les environs d'Eauze, dans le Gers. Ces étangs sont alimentés uniquement par les pluies. Le fond d'argile est recouvert d'une épaisse couche de vase et de détritus de toute sorte fréquemment agités par le passage du bétail.

L'eau jaunâtre renferme 8.000 coli au litre. Deuxensemencements n'ont pas donné de cultures. Les autres ont cultivé, mais nous n'avons jamais trouvé de colibacille.

4° Poissons d'estuaires.

Un lot de goujons d'estuaires et un lot d'aloses ont été examinés séparément à dessein parce qu'ils sont habituellement les hôtes d'un milieu à la fois d'eau douce et marin.

I. — Les goujons ont été pris à Hendaye, au lieu dit Canna, à marée basse, dans un bras très étroit de la Bidassoa, dont le fond de vase épaisse est encore très souillé d'ordures ménagères. Ces poissons, au dire des pêcheurs, ne prennent jamais la mer et ne quittent l'estuaire que pour remonter à Biriadou, à quelques kilomètres en amont, au moment du frai.

L'eau, au moment de l'expérience, renferme 30.000 germes de coli nombrés par la méthode de Vincent. La pêche, faite à la main, comprend 6 poissons différents par la taille :

- I et II : 7 centimètres environ;
- III : 12 centimètres environ;
- IV : 15 centimètres environ;
- V et VI : 20 centimètres environ.

Les prises d'essai ont été faites sur place, de la façon la plus aseptique, avec le matériel et d'après la technique du laboratoire. Cependant l'intestin I étant trop réduit pour un prélèvement à la pipette, j'ai fait un ensemencement de l'intestin total préalablement sectionné. L'intestin V est

presque vide; les autres sont remplis d'une matière jaunâtre, fluide, très abondante. J'ai ensemencé sur eau peptonée et j'ai fait simultanément sur ce même milieu deux repiquages d'une culture sur gélose de deux colibacilles témoins : une pure, une polluée, de *Proteus*.

Les bouillons ne furent mis à l'étuve que six heures plus tard. Cependant, quarante-huit heures après l'ensemencement, le témoin pur présentait une pellicule à la surface et un dépôt floconneux; le témoin pollué, un trouble uniforme du bouillon. Cinq milieux d'expérience avaient cultivé, seul, le bouillon V restait limpide.

Dès le premier repiquage sur gélose lactosée tournesolée, III et IV donnent de grosses colonies bleues, volumineuses, ridées, à double contour, caractéristiques du *Mégatherium*.

Les trois autres cultures présentent de volumineuses colonies qui se distinguent seulement du milieu par l'aspect plus cireux et plus transparent et la bordure marquée d'une frange écumeuse. Le bacille qui en gélose est immobile, long, à Gram douteux, n'a pu être identifié. Les grandes plages claires sont parsemées de taches roses d'abord, qui deviennent jaunes, muqueuses, à bord gris, envahissant la masse dans la culture VI; l'ensemencement I a donné ces mêmes taches versicolores muqueuses avec de petites colonies irisées à bord frangé d'une teinte rose rouge qui se communique bientôt à toute la masse en profondeur.

Il ne nous reste donc plus que deux poissons : un des plus grands et un des plus petits, et deux variétés de colonies : une rose rouge stable et une évoluant en jaune muqueux.

Les bacilles de cette dernière sont excessivement mobiles, ils donnent un trouble uniforme du bouillon et des cultures grises envahissant en quelques heures toute la gélose. La similitude avec la culture témoin polluée est confirmée par le Gram et l'examen microscopique; il s'agit d'une variété de *Proteus*. Au contraire, l'examen des colonies roses nous montre de nombreux bâtonnets, courts, arrondis aux extrémités, mobiles, à Gram négatif. Les cultures en milieux

spécifiques confirment cette première étude : c'est du colibacille, malgré les réactions très faibles de l'indol sur les cultures peptonées, que renfermait, seul, l'intestin d'un goujon de 7 centimètres environ sur le lot de six.

II. — Le lot d'aloses est composé de 8 individus : 4 moyens, 2 petits, 2 alevins, pêchés à l'appât dans les eaux particulièrement souillées de la Garonne, à Bordeaux, en amont et en aval du débouché du Peugue.

Bien que près du laboratoire, j'ai fait les ensemencements sur place. Ils ont donné seulement cinq cultures. J'ai pu identifier : dans trois, du *Proteus*; dans deux, du *Subtilis*; l'intestin d'une petite alose était porteur, avec le *Subtilis*, d'un vibrion assez voisin du vibrion cholérique.

Pas de colibacille.

Ces observations et les travaux précédents montrent que, sur 25 aloses examinées, il ne se trouve pas un porteur de colibacille. Or, ces poissons d'estuaires, vivant dans un milieu moyen d'eau de mer et d'eau douce polluée à la fois, se rapprochent des individus examinés par Fleury, prélevés au débouché d'égouts, où la composition de l'eau est plus voisine de l'eau douce souillée que du milieu marin, et ainsi nos expériences se confirment réciproquement.

On peut conclure, après ces essais nombreux, que chez les poissons vivants :

- 1° Le colibacille se trouve essentiellement chez les sujets jeunes;
- 2° La contamination de l'hôte n'est pas en rapport avec la pollution du milieu, puisque l'examen des poissons d'étang à 8.000 germes ne nous a donné que des cultures négatives, alors que nous avons trouvé du coli chez une truite en eau de torrent; d'autre part, la proportion des résultats positifs n'est pas plus forte à Bordeaux qu'en amont de Tonneins;
- 3° Contrairement à l'opinion classique, le colibacille n'est pas l'hôte normal et constant, mais bien l'hôte

exceptionnel de l'intestin du poisson d'eau douce, même en eau très polluée, où sa nourriture habituelle est souillée de nombreux germes.

Il n'en reste pas moins à expliquer ces cas d'exception. Les données de la bibliographie et les particularités de mes recherches m'ont conduit à l'hypothèse d'un milieu interne particulièrement défavorable, tel que le coli ne se retrouve dans l'intestin que si celui-ci est en état de déficience bactéricide ou si la bactérie est apportée par une cause fortuite au moment même de la prise.

L'état de déficience expliquerait la proportion plus forte de colibacille dans le contenu intestinal des poissons du marché et aussi de jeunes poissons dont les fonctions sécrétrices seraient moins actives.

La première des causes fortuites de pollution qui se présentent à l'esprit est l'appât.

DEUXIÈME PARTIE

Recherches du colibacille chez les poissons d'eau douce dans des conditions expérimentales.

Dans de grands bacs cylindriques de 40 cm³ remplis d'eau stérile réoxygénée par battage à l'air, nous plaçons d'abord un lot de cyprins dorés, préalablement alimentés dans d'autres bacs avec un appât de mie de pain malaxée dans le bouillon particulièrement riche d'une culture de colibacille. Les intestins de trois de ces cyprins examinés aussitôt après le repas d'épreuve donnèrent des cultures positives riches, mais le reste du lot ne se conserva que quelques heures.

J'ai alors choisi comme sujets d'expérience les anguilles et les tanches parce que ces poissons se conservent longtemps en milieu confiné.

I. — Tanches.

4° 15 Tanches comportant 5 séries de 3 individus de taille sensiblement égale :

5 grosses : 750 grammes environ;

5 moyennes : 250 grammes environ;

5 petites : 100 grammes environ,

ont été d'abord examinées.

Chaque série était nourrie avec un appât fragmenté de 50 grammes environ avant d'être jetée dans le milieu d'expérience.

IV

INFLUENCE DES APPATS

J'ai obtenu de vingt pêcheurs autant d'échantillons d'asticots. Les larves, sectionnées et écrasées avec des instruments stériles, étaientensemencées dans de l'eau peptonée et la séparation des germes faite par la méthode déjà employée pour le contenu intestinal des poissons. Cinq ballons ont poussé : une seule culture renfermait du colibacille.

La mie de pain malaxée avec du fromage, appât fréquent au bord de la Garonne, m'a donné une plus forte proportion de résultats positifs : six sur trente en quatre séries d'expériences.

Mais la portée de ces recherches ne paraissant pas suffisante pour en tirer des conclusions, j'ai résolu de me placer entièrement dans le domaine expérimental.

V

COLIBACILLE ET MILIEU PERITONEAL

Je n'ai jamais trouvé de colibacille dans le péritoine des poissons morts ou vivants dont j'ai examiné l'intestin.

Les recherches ne présentant pas d'intérêt en dehors de cette constatation, l'exposé des résultats toujours négatifs en serait fastidieux : aussi ne lui ai-je pas donné plus d'extension.

Ce n'est pas cependant que le péritoine des poissons soit constamment stérile; j'ai en particulier découvert chez un barbillon une bactérie verte encore mal définie, s'apparentant aux variétés chromogènes d'Engelmann et de Tartaroff, mais dont l'étude, ne rentrant pas dans le cadre de ce travail, fait l'objet d'une publication spéciale.

Dix minutes après, une tanche de chaque série est ouverte, l'intestin global est sectionné etensemencé.

Les autres poissons sont sacrifiés par série de trois :

- II. — 2 heures après la première expérience;
- III. — 5 heures après la première expérience;
- IV. — 9 heures après la première expérience;
- V. — 24 heures après la première expérience,

la plus jeune tanche de la dernière série était morte.

Les trois cultures de la première série sont particulièrement poussées, et l'examen plus approfondi montre des colonies de *Subtilis* et de coli pour la tanche la plus jeune; les deux autres donnent des cultures pures de coli.

La série II ne donne plus qu'un résultat positif : celui de la tanche la plus jeune. Les autres ensemencements n'ont pas donné de culture, à l'exception des deux tanches moyennes, des séries III et IV, qui, toutes les deux, ont fourni du *Subtilis*.

2° 30 Tanches : Une nouvelle expérience sur 30 poissons de la même espèce alimentés un à un et immolés de demi-heure en demi-heure montre qu'une tanche de 15 centimètres, en absorbant 5 grammes d'appât souillé par 3 cm³ d'une culture de trente-six heures de Coli communis, peut présenter du colibacille dans l'intestin une demi-heure après le repas d'épreuve, mais n'en présente plus trois heures après.

II. — Anguilles.

Dans les mêmes conditions expérimentales, on arrive, avec les anguilles, à des résultats légèrement différents qui mettent mieux en évidence le rapport que nous avons soupçonné entre le développement du poisson et son action bactéricide à l'égard du colibacille.

En effet, les résultats obtenus par l'examen de 60 anguilles peuvent se traduire par le tableau suivant, dans lequel la présence du coli est marquée par un signe positif.

	Anguille adulte 0 ^m 60-0 ^m 40	Anguille moyenne 0 ^m 40-0 ^m 25	Anguille jeune 0 ^m 25-0 ^m 15
Après 1 heure....	+ + +	+ + +	+ + +
» 2 heures ..	0	+ + +	+ + 0
» 3 heures...	0	+ + 0	+ 0 0
» 4 heures...	0	0	+ + 0
» 5 heures...	0	0	0
» 6 heures...	0	0	0

Tandis qu'une anguille adulte n'a jamais de colibacille deux heures après le repas d'épreuve, une anguille jeune en a encore quatre heures après l'absorption de ce même repas.

J'ai vérifié, en outre, que le colibacille disparaît dans l'intestin de deux poissons de la même espèce et du même poids sensiblement au même moment après l'absorption de 5 gouttes ou de 5 cm³ de bouillon. On peut en conclure que la durée de vie du colibacille dans le milieu intestinal du poisson d'eau douce ne varie pas proportionnellement aux doses de cultures ingérées, à moins qu'elles ne soient infimes ou par trop exagérées.

Nous avons trouvé dans l'étude de l'action des extraits une confirmation de cette particularité.

L'eau a été examinée avant l'immersion des poissons, puis trois fois pendant ces expériences : dix minutes, neuf heures, et vingt-quatre heures après.

J'ai employé la méthode de Braun, qui utilise le milieu de Savage : bouillon peptoné au rouge neutre réparti en tubes de 6 cm³ qu'on additionne de quantités d'eau à examiner croissant de 1 à 10 cm³. Calmette et Guérin jugent cette méthode très satisfaisante pour l'évaluation rapide de la pollution. Le bouillon rouge rubis donne une fluorescence verte si la quantité de coli est appréciable, devient jaune canari si le colibacille est très abondant.

Les milieux de la première épreuve ne virent pas. Dans la seconde série, les deux derniers tubes présentent une très légère fluorescence, due probablement aux microbes entraînés de l'eau polluée à la surface du corps des pois-

sons, ce qui serait en faveur de la théorie de Remlinger, sur la souillure des eaux potables par les hôtes des eaux contaminées.

Dans les autres milieux, la fluorescence est nulle.

La portée de ces expériences est plus grande que nous ne l'avions pensé :

Au point de vue du rôle des appâts, elles expliquent que, dans un lot de poissons de même espèce pêchés ensemble, on puisse trouver des individus porteurs de coli avec un ensemble non porteur si les exceptions ont absorbé avant leur prise une partie polluée de l'appât ou un déchet très souillé.

Au point de vue général, elles apprennent que, cinq heures après l'absorption d'une culture virulente de colibacille, l'intestin d'une tanche ou d'une anguille ne contient plus de germes. Ce qui établit, au moins, que le milieu intestinal tanche et anguille n'est pas propice à la culture du colibacille.

On peut étendre cette conclusion au poisson d'eau douce, en général, puisqu'il n'est pas possible que les poissons à coli négatif examinés précédemment n'aient pas à un moment quelconque absorbé du colibacille.

Dans le cas présent, les microbes absorbés auraient dû être rejetés dans le milieu extérieur avec les excréments, et l'analyse de ce milieu devrait révéler une augmentation sensible de la proportion de coli. Il n'en est rien ! Sans doute, il est prouvé que le *Coli communis* finit par disparaître dans une eau emmagasinée dans un réservoir, mais Diénert et Etrillard indiquent pour cette autoépuration une limite de temps variant de deux à trois semaines.

Il est plus logique d'admettre la destruction des germes à l'intérieur même de l'intestin et l'épuration de l'eau par les poissons, qui sont en quantité considérable pour un milieu restreint.

Ceci nous conduisait à une vérification expérimentale directe de l'action du milieu intestinal sur le *Coli communis*.

TROISIÈME PARTIE

Recherches sur l'action du milieu intestinal.

I

SUR LE COLIBACILLE

Je me suis inspiré pour la préparation des extraits du mode opératoire donné par MM. Jammes et Mandoul [14] au sujet de la recherche sur le pouvoir antibactérien de l'extrait de cestodes.

1° Technique.

Le poisson, fixé sur l'arête dorsale, est ouvert, la masse viscérale et le péritoine, sectionnés, sont prélevés et lavés sous un fort courant d'eau, pesés, puis le tout est divisé au ciseau en petits fragments qui sont triturés longuement au mortier de verre avec du sable lavé, puis avec du coton de verre lavé. On obtient une bouillie sale gris jaunâtre.

Cette bouillie est mise à macérer avec quatre parties de sérum physiologique pendant vingt-quatre heures à la glacière, puis, toujours dans la glacière, jetée sur un filtre.

Après 42 heures, on recueille un liquide visqueux, d'odeur forte, que l'on stérilise par filtration dans un appareil de Kita-Sato muni d'une bougie Chamberlan n° 3 préalablement

passée au four à flamber. Le rendement, très faible, ne dépasse guère 1 cm³ à l'heure; le liquide obtenu est clair, légèrement opalescent, d'odeur fade. Additionné de partie égale d'eau peptonée, on obtient un extrait nutritif à 1/10°.

J'ai choisi comme sujets d'expérience des carpes, des tanques et des anguilles, poissons communément employés dans l'épuration des eaux d'égout.

2° Ensemencements sur milieux additionnés d'extrait.

A. — ANGUILLES.

L'intestin lavé de cinq anguilles adultes m'a fourni 48 cm³ d'extrait peptoné à 1/10°, avec lequel nous avons préparé huit séries de milieux ainsi composés :

A. 5 cm³ eau peptonée pure : 3 tubes.

1. 5 cm³ eau peptonée pure, 2 gouttes d'extrait : 2 tubes.

2. 4 cm³ 5 eau peptonée pure, 10 gouttes d'extrait : 2 tubes.

3. 4 cm³ eau peptonée pure, 1 cm³ d'extrait : 3 tubes.

4. 3 cm³ eau peptonée pure, 2 cm³ d'extrait : 3 tubes.

5. 2 cm³ eau peptonée pure, 3 cm³ d'extrait : 3 tubes.

6. 1 cm³ eau peptonée pure, 4 cm³ d'extrait : 3 tubes.

B. 5 cm³ d'extrait pur.

Les milieux ainsi obtenus sontensemencés simultanément avec une culture de coli en gélose âgée de trente-six heures, fournie par l'Institut Pasteur de Bordeaux.

Vingt-quatre heures après l'ensemencement, les tubes des première et deuxième séries, un tube de la troisième, présentent un trouble décroissant à peine sensible pour le dernier.

Quarante-huit heures après, ce dernier tube s'est éclairci par abandon d'un faible dépôt, et, pendant quatre jours, l'examen ne montre plus de modifications, si ce n'est une sédimentation légère des tubes de la deuxième série.

Tandis que les frottis de culture en eau peptonée pure

sont riches, le colibacille est très rare dans les milieux additionnés d'extrait, la réaction de l'indol est faible, le virage du lait tournesolé à peine amorcé trente-six heures après l'ensemencement en milieux spécifiques.

Des expériences parallèles en gélose lactosée tournesolée en boîte de Pétri nous ont donné des résultats sensiblement identiques et plus faciles à suivre. Ont seuls cultivé les milieux retenant de l'extrait en proportion égale ou inférieure à 2 gouttes par 5 cm³.

B. — CARPES ET TANCHES.

Avec des intestins de carpes et de tanches, nous avons obtenu les résultats suivants quarante-huit heures après l'ensemencement :

Suc pur par 5 cc.		0	0,01	0,3	0,1	0,2	0,9	0,4	0,5
Carpe...	gélose . . .	+++	0	0	0	0	0	0	0
	eau pept..	+++							
Tanche.	gélose.....	+++	+	0	0	0	0	0	0
	eau pept...	+++							

Le suc intestinal de la tanche paraît d'une nocivité sensiblement égale à celle de l'anguille.

Pour la carpe, au contraire, nous n'avons obtenu la pousse du coli qu'avec 3 gouttes de notre extrait à 1/10^e pour 5 cm³ d'eau peptonée.

3° Addition d'extraits intestinaux à des cultures développées.

Tant pour vérifier ces expériences que pour nous placer dans des conditions plus voisines de la culture *in vivo*, nous avons fait une nouvelle série d'essais en additionnant des cultures déjà poussées de quantités décroissantes de suc intestinal.

Cinq séries de cultures en 5 cm³ d'eau peptonée âgées de

vingt-quatre heures sont additionnées de 1, 2, 3, 5 cm³ d'extrait peptoné à 1/10^e d'intestin d'anguille et légèrement agité.

L'examen microscopique fait d'heure en heure montre des bacilles mobiles de moins en moins nombreux. Après trois heures, de rares colis apparaissent encore dans deux cultures, 1 et 2, et une culture 3 (chiffres correspondant au nombre de centimètres cubes d'extrait); après quatre heures, on ne voit plus une bactérie mobile dans le champ du microscope. A ce moment, un ensemencement de chaque série en milieu spécifique ne donnera aucune modification à ces milieux, tandis que les témoins ont conservé toute leur vitalité.

Cette disparition sensiblement simultanée des germes dans les milieux de cultures est en concordance avec les expériences de MM. Jammes et Mandoul sur l'action bactéricide des extraits de cestodes, d'après laquelle l'action de l'extrait est égale, quelles que soient les doses employées, à moins qu'elles ne soient infimes ou par trop exagérées.

Pour parer à l'objection de la disparition de la bactérie par variation de la réaction ionique du milieu, nous l'avons étudiée pas à pas.

4^e Influence du pH.

Le pH des dilutions à 1/10^e en eau peptonée, déterminé par la méthode de Michaelis, est, pour les extraits d'anguilles, de carpes et de tanches, compris entre 7,4 et 7,6 sans jamais atteindre « 8 », considéré comme point limite pour le colibacille.

Cependant, pour plus de sécurité, nous avons préparé pour les expériences ici consignées une eau distillée renfermant par litre 20 grammes de phosphate acide de sodium et 35 grammes de phosphatée acide de potassium. Les solutions d'extraits ainsi obtenus avoisinaient 6,6-6,8, considéré comme pH optimum pour les cultures de colibacille. Pendant la durée des expériences, ces pH ne varient que très peu.

Il s'agit donc bien d'une action bactériide du milieu intestinal du poisson d'eau douce à l'égard du colibacille. Mais on ne peut plus trouver d'explication de la culture positive du coli après ensemencement du milieu intestinal que dans un état de carence antibactérienne de l'individu, car il est probable que la quantité de suc entraînée dans la prise serait suffisante pour détruire les microbes d'une pollution même récente, et cet état de carence est plus particulier aux individus jeunes, puisque c'est à peu près exclusivement chez eux que nous trouvons ces exceptions.

II

RECHERCHES COMPARATIVES DE L'ACTION DE L'EXTRAIT D'INTESTIN SUR DES BACILLES AUTRES QUE COLI

Il m'a paru utile de définir, en terminant ce travail, si l'action bactériode du tube digestif des poissons d'eau douce est spécifique du colibacille.

Nous avons déjà la preuve qu'elle était sensiblement nulle à l'égard du *Subtilis*, car un de ces microbes, qui avait souillé un extrait péptoné pur, s'y est parfaitement développé.

La même expérience donne des résultats identiques avec le *Proteus* et le *Megatherium*, ce qui explique que nous ayons fréquemment trouvé ces microbes dans l'intestin des poissons vivants examinés.

Par contre, il est des bacilles plus sensibles que le coli à l'action bactéricide de l'extrait intestinal : les bacilles typhiques et le bacille de Loeffler. Il ne s'agit pas cependant de milieux mal dosés ou de mauvaises préparations, puisque après l'insuccès de ces ensemencements, le coli cultive dans ces mêmes milieux, pas plus que de variations ioniques de l'acidité, puisque les pH sont, à tout moment, compatibles avec le développement des microbes examinés.

Nous avons ajouté, par doses croissantes, un extrait péptoné à 1/20^e d'intestin d'anguille à 10 cm³ de culture. La vérification, faite quarante-huit heures après l'addition d'extrait, donne les doses mortelles limites suivantes pour les bacilles examinés :

Diphthérique : au-dessous de 1 goutte.

Typhique-Paratyphiques A et B : 2 gouttes.

Colibacille : 10 gouttes.

Subtilis, *Proteus*, *Megatherium*, cultivent en extrait pur.

Ces trois derniers bacilles se développent encore en extrait au tiers peptoné à 10 p. 1.000 à la peptone de Witte.

Autant qu'on en puisse juger par ces quelques expériences, la résistance des microbes à l'extrait intestinal semble liée à leur résistivité générale aux antiseptiques et aux agents physiques, et le colibacille serait intermédiaire entre les formes peu résistantes et les microbes sporulés.

CONCLUSIONS

Nos expériences sur le colibacille et le milieu intestinal nous permettent d'établir les faits suivants :

I. — Le colibacille ne se rencontre jamais dans le péritoine du poisson d'eau douce, mort ou vivant.

II. — Le colibacille ne se trouve qu'à l'état d'exception dans le tube digestif des poissons d'eau douce, morts ou vivants.

Pour ce qui est des poissons vivants :

- a) Les exceptions se constatent à peu près exclusivement chez les sujets jeunes;
- b) La fréquence de la présence du coli chez le poisson n'est pas en rapport avec la pollution du milieu dont il est l'hôte habituel.

III. — Le colibacille est détruit dans le tube digestif du poisson vivant :

- a) Le délai maximum de cette destruction est de cinq heures pour un poisson moyen s'il n'y a pas d'apports nouveaux;
- b) La dose ingérée est sans importance, à moins qu'elle ne soit infime ou par trop exagérée.

IV. — L'extrait intestinal de poisson d'eau douce est :

- a) Bactéricide à l'égard du colibacille et de quelques bactéries de moindre résistance;
- b) Sans action sur les microbes à forme sporulée.

VU : *Le Doyen,*
C. SIGALAS.

VU, BON A IMPRIMER :

Le Président,
H. MANDOUL.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Bordeaux, le 23 juillet 1933.
Le Recteur de l'Académie,

A. TERRACHER.

BIBLIOGRAPHIE

1. COURMONT. — Précis de bactériologie pratique, 1926, p. 435.
2. GUIART et GRIMBERT. — Précis de diagnostic chimique, microscopique et parasitologique, p. 561.
3. PHILIBERT (A.). — Manuel de bactériologie médicale. Masson, 1928.
4. MANDOUL. — Les eaux d'alimentation de la ville de Toulouse. Leur rôle au point de vue hygiénique (1898). Thèse de médecine Toulouse. Baudry et C^o, édit., Paris.
5. FLEURY. — Recherches expérimentales sur le bacille coli en milieu marin et chez quelques poissons marins. Thèse pour le doctorat en pharmacie, 1931, Bordeaux.
6. DIENERT et ETRILLART. — Recherche et énumération directe sur milieu solide du bacille coli contenu dans un grand volume d'eau. *Analyse Institut Pasteur*, t. XLIII, oct. 1929, n^o 10.
7. DUMONT. —
8. MULLER. — *Munch. Mediz. Wochenschrift*, 3 mars 1914.
9. TANNEZO KABESHIMA. — Le poisson de mer considéré dans ses rapports avec le vibron cholérique qui peut exister dans l'eau. *Revue d'hygiène*, 1927.
10. AZZI. — *Revue d'hygiène*, avril 1927.
11. REMLINGER. — Quelle importance faut-il accorder à la présence des poissons dans les eaux d'alimentation des villes. *Revue d'hygiène*, oct. 1912.
— Du rôle des poissons dans la transmission des maladies infectieuses et la contamination des eaux potables. *Revue d'hygiène*, avril 1927.

12. HUGEL. — Le tout-à-l'égout de la ville de Strasbourg (12 juillet 1923). *Ouest-Eclair*, Rennes, 1924.
13. CALMETTE, NÈGRE et BOCQUET. — Manuel technique de microbiologie et sérologie. Masson, 1926.
14. JAMES (L.) et MANDOUL (H.). — Sur les propriétés bactéricides des sucs helmintiques. *C. R. Acad. Sc.*, 1904.
15. AGASSE-LAFONT (E.). — Les applications pratiques du laboratoire à la clinique. Vigot, 1920.
16. BAILLY-SALIN. — L'eau potable dans la ville de Sens. Thèse de doctorat en pharmacie, U. P., 1912.
17. DIÉNERT (F.). — Eaux douces et eaux minérales. Béranger, 1912.
18. DENIGÈS (G.), CHELLE (L.), LABAT (A.). — Précis de chimie analytique. Norbert Maloine.
19. DUJARRIC DE LA RIVIÈRE (R.) et CHU (Th.). — Sur quelques techniques d'isolement et d'identification des microbes des eaux. *Revue d'hygiène et de médecine préventive*, t. LIII, avril 1931, n° 4.
20. FAURE (J.-J.). — Analyse chimique des eaux du département de la Gironde. Chaumas Gayet, 1853.
21. GUILLARD (M.-A.). — Analyse de l'eau : méthodes françaises et étrangères. *Annales d'hygiène publique*, 1927.
22. GUILLEMIN (J.-H.). — Essais sur la bactériologie de l'eau de mer. Thèse de doctorat en pharmacie, U. B., 1901.
23. JADIN (F.) et ASTRUC (A.). — Précis d'hydrologie, de géologie et de minéralogie. Maloine, 1920.
24. LEVINE (M.). — On the correlation of the Voges-Proskauer's and methyl red reactions in the colon-aerogenes group of bacteria. *Journ. Inf. Dis.*, t. XVIII.
— *Ibid.*, t. XXIII, 1918. *American Public Health Association*, Standard methods of Water Analysis, 5th ed. 1925, « Eosin-methylene blue agar ».
— On the significance of the Vosges and Proskauer's reaction. *Journal of Bacteriology*, 1916.
25. LÉVINE, WELTER and JOHNSON. — The Vosges Proskauer reaction and correlated reactions of colilike organisms. *Journ. Inf. Dis.*, t. XXI, 1917.

- MANDOUL (L.). — Sur la signification du colibacille dans les eaux potables, 1899, *C. R.*, XXXVII, Congrès des Soc. sav. de Paris.
- MANDOUL (en collab. avec le Dr GRIoux [L.]). — A propos de la signification du bacille coli dans les eaux potables. Etudes de ce bacille dans les eaux de Toulouse.
26. GIRARD (H.). — Enseignement de microbiologie du professeur Mandoul. Notes et techniques recueillies par Girard.
27. MANDOUL (H.), VERDUN. — Précis de zoologie. Maloine et fils, 1922.
28. MINISTÈRE DE L'INTÉRIEUR. — Laboratoire du Conseil supérieur d'hygiène publique de France. Analyse des eaux, méthodes et procédés. Imprimerie administrative, Melun, 1913.
29. MIQUEL (P.) et GAMBIER (R.). — Traité de bactériologie pure et appliquée. Naud, 1902.
30. MOLLIEX (P.), Analyse bactériologique des eaux potables. Le François, 1925.
31. MOREAU (E.). — Histoire naturelle des poissons de la France. Masson, 1881.
32. OHLMULLER (W.). — Guide pratique pour l'analyse de l'eau. Baudry, 1898.
33. PERRIER (R.). — Zoologie. Masson, 1912.
34. PHILIBERT (A.). — Manuel de bactériologie médicale. Masson, 1928.
35. SKINNER and MURREY. — Medium for inhibition of spreaders and differentiation of *B coli* and *B aerogenes*. *Journ. Inf. Dis.*, 1924.
36. TEAGUE. — A new culture medium for the isolation of *B typhosus* from stools. *Journ. Inf. Dis.*, t. XVIII, 1916.

